ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE PARIS

Année 1890-91 — *N° 4*

RECHERCHES NOUVELLES
SUR LES VINS

THÈSE

Pour l'obtention du Diplôme de Pharmacien de 1re classe

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE LE 2 JUIN 1891

PAR

HUGOUNENQ Louis-Joseph

Né à Lodève (Hérault) le 21 février 1860

Docteur ès-sciences, Docteur en médecine
Professeur agrégé à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Lyon

JURY
MM. PLANCHON, *Président.*
JUNGFLEISCH, *Professeur.*
LEIDIÉ, *Agrégé.*

LYON
IMPRIMERIE DE A. STORCK
Rue de l'Hôtel-de-Ville, 78

1891

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE PARIS

Année 1890-91 *N° 4*

RECHERCHES NOUVELLES
SUR LES VINS

THÈSE

Pour l'obtention du Diplôme de Pharmacien de 1re classe

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE LE 2 JUIN 1891

PAR

HUGOUNENQ Louis-Joseph

Né à Lodève (Hérault) le 21 février 1860

Docteur ès-sciences, Docteur en médecine
Professeur agrégé à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Lyon

JURY
MM. PLANCHON, *Président*,
JUNGFLEISCH, *Professeur*,
LEIDIÉ, *Agrégé*.

LYON
IMPRIMERIE DE A. STORCK
Rue de l'Hôtel-de-Ville, 78
—
1891

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

DE PARIS

ADMINISTRATION

MM. G. Planchon, Directeur, ✻, ✿ I.
A. Milne-Edwards, Assesseur, Membre de l'Institut, O ✻, ✿ I.
E. Madoulé, Secrétaire, ✿ I.

PROFESSEURS

MM. Milne-Edwards, O ✻, ✿ I.	Zoologie.
Planchon, ✻, ✿ I.	Matière médicale.
Riche, O ✻, ✿ I.	Chimie minérale.
Jungfleisch, ✻, ✿ I.	Chimie organique.
Le Roux, ✻, ✿ I.	Physique.
Bourgoin, ✻, ✿ I.	Pharmacie galénique.
Bouchardat, ✿ I.	Hydrologie et Minéralogie.
Marchand, ✿ I.	Cryptogamie.
Prunier, ✿ I.	Pharmacie chimique.
Moissan, ✻, ✿ A.	Toxicologie.
Guignard, ✿ I.	Botanique.
Villiers-Moriamé, ✿ A, *Agrégé, chargé de cours*	Chimie analytique. (*Cours complémentaire.*)

Directeur et professeur honoraire : M. Chatin, Membre de l'Institut, O ✻, ✿ I,
Professeur honoraire : M. Berthelot, Membre de l'Institut, G. O ✻, ✿ I.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. Beauregard, ✿ I.
Villiers-Moriamé, ✿ A.
Leidié, ✿ A.
Gautier.

MM. Bouvier, ✿ A.
Bourquelot, ✿ A.
Béhal.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. Ouvrard : 1re année	Chimie.
Lextreit, ✿ A : 2e année	Chimie.
Radais : 3e année	Micrographie.
Quesneville ✿ A. 2e année	Physique.

Bibliothécaire : M. Dorveaux ✿ A.

A LA MÉMOIRE

DE

J.-E. PLANCHON

Louis HUGOUNENQ.

RECHERCHES NOUVELLES SUR LES VINS





INTRODUCTION

L'action défavorable des vins en général, et particulièrement des vins rouges, sur la digestion pepsique est un fait d'observation fréquente. J'ai voulu me rendre compte des causes multiples de cette action, en étudiant l'influence de chacun des éléments du vin sur la pepsine, par une analyse à la fois physiologique et chimique. C'est la première partie de mon travail.

Au cours de ces recherches, j'ai recueilli quelques observations sur les méthodes d'analyse du vin; j'ai découvert un procédé simple et rapide pour préparer la matière colorante des vins naturels ou œnoline à un grand état de pureté; j'en ai profité pour observer plusieurs faits nouveaux touchant l'histoire de cette substance. Je les exposerai dans la seconde partie de cette étude.

PREMIÈRE PARTIE

Recherches sur l'influence des vins sur la digestion pepsique

On est à peu près fixé sur les conditions les plus favorables à l'action de la pepsine. On a fait connaitre quelques substances qui retardent ou entravent complètement cette action; mais l'analyse des effets exercés sur ce ferment soluble par les éléments d'un produit alimentaire n'a pas encore été faite.

Ce chapitre est le résumé des recherches que j'ai poursuivies dans cette voie, en choisissant comme sujet d'étude le vin.

J'ai suivi la méthode des digestions artificielles avec la fibrine de bœuf lavée pendant plusieurs heures dans un courant d'eau froide, exprimée et conservée dans la glycérine pure. J'ai opéré sur des échantillons de 5 gr. lavés et essorés ensemble, puis pesés à l'état humide. Ils contiennent en moyenne 63 °/₀ d'eau et représentent par conséquent 1 gr. 85 de fibrine séchée à 100°-110°.

Dans des flacons bouchés à l'émeri on faisait agir sur 5 gr. de fibrine 0 gr. 10 ou (exceptionnellement) 0 gr. 05 de pepsine commerciale, digérant en 24 heures 50 fois son poids de fibrine humide (1).

La même pepsine a servi pour toutes les expériences; la provision de fibrine a été renouvelée deux fois.

L'acidité du milieu était obtenue par l'addition d'une solution titrée d'acide chlorhydrique, calculée pour une richesse de 3 gr. HCl par litre environ. Cette proportion a varié d'une expérience à l'autre, mais elle était égale pour tous les essais d'une même expérience.

La température de l'étuve d'Arsonval était maintenue aussi constante que possible entre 36° et 40°, généralement vers 37°-38°. En opérant

(1) Température, 40°-41°; acidité 3 r. HCl par litre.

à une température plus élevée, on obtient des effets plus rapides; mais cette pratique, convenable peut-être pour l'essai commercial des pepsines, s'éloigne trop des conditions normales de la digestion physiologique. J'ai cherché, au contraire, à obtenir des digestions lentes pour accuser des différences qu'une opération rapide ne laisse pas saisir.

Toutes les digestions d'une même série étaient effectuées dans des conditions identiques (température, degré d'acidité, proportions de fibrine et de diastase): chaque digestion ne différant des autres que par l'élément à étudier, les résultats étaient comparables entre eux et avec ceux d'une digestion témoin dans l'eau acidulée.

Pour constater la fin de l'opération, je me suis servi du procédé classique, l'addition de quelques gouttes d'acide azotique pur à la liqueur filtrée. La digestion est terminée quand le liquide ne se trouble plus.

J'examinerai d'abord l'influence totale exercée par les vins sur la digestion pepsique, puis l'action de leurs principaux éléments, en insistant dans la dernière partie sur le rôle important des matières colorantes naturelles et artificielles.

I. — ACTION TOTALE DES VINS

Six échantillons de vins ont été essayés :

1° Vin du Midi naturel, provenant de cépages français (aramons, carignanes, hybrides Bouschet), greffés sur plants américains (riparias, jacquez). Vignes de 5 à 8 ans en pleine production. Récolte de 1889. La vendange a été phosphatée.

Alcool (en volume)...	8°7
Extrait à 100°................	24 gr. 4 par litre
Cendres....................	3 gr. 8 —
Crême de tartre.............	3 gr. 8 —
Acide tartrique libre.........	0 gr. 15 —
Acidité.......	6 gr. en SO^4H^2
Tannin.....................	2 gr. —
Sulfate de potasse...........	0 gr. 64

Matière colorante brillante.

2° Vin de jacquez pur, naturel, récolté à l'Ecole nationale d'agriculture de Montpellier (1889).

Alcool (en volume)	8°3	
Extrait à 100°	27 gr. 3	par litre
Cendres	2 gr. 8	—
Crême de tartre	4 gr. 2	—
Acide tartrique libre	(non dosé)	
Acidité	6 gr. 31	en SO^4H^2
Tannin	1 gr. 14	—
Sulfate de potasse	0 gr. 74	—

Matière colorante abondante, rouge violacée avec reflets bleuâtres.

3° Vin rouge de la Haute-Bourgogne, Puligny près Montrachet (Côte-d'Or). Cépages français (un tiers Gamay, deux tiers Pineau). Récolte de 1886. Vignes phylloxérées, ayant 80 ans d'existence.

Alcool (en volume)	11°2	
Extrait à 100°	20 gr. 5	par litre
Cendres	1 gr. 7	—
Crême de tartre	4 gr. 2	—
Acide tartrique libre	0 gr. 07	—
Acidité	4 gr. 07	en SO^4H^2
Tannin	1 gr. 35	—
Sulfate de potasse	0 gr. 34	—

Vin corsé, riche en couleur.

4° Vin rouge de Bordeaux. Naturel (?)

Alcool (en volume)	9°5	
Extrait à 100°	20 gr.	par litre
Cendres	1 gr. 9	—
Crême de tartre	2 gr. 2	—
Acide tartrique libre	(non dosé)	
Acidité	4 gr. 1	en SO^4H^2
Tannin	1 gr. 56	—
Sulfate de potasse	0 gr. 82	—

Matière colorante peu riche.

5° Vin blanc naturel de la Haute-Bourgogne, Puligny près Montrachet (Côte-d'Or). Cépage Gamay blanc. Récolte 1888. Vigne de 35 à 40 ans.

Alcool (en volume)	9°6
Extrait à 100°	15 gr. 1 par litre
Cendres	1 gr. 1 —
Crême de tartre	2 gr. 7 —
Acide tartrique libre	(non dosé)
Acidité	4 gr. 6 en SO^4H^2
Tannin	(non dosé)
Sulfate de potasse	(non dosé)

Vin peu coloré.

6° Vin blanc naturel de la Basse-Bourgogne, Viviers près Chablis (Yonne).

Alcool (en volume)	6°6
Extrait à 100°	17 gr. 1 par litre
Cendres	1 gr. 9 —
Crême de tartre	3 gr. 3 —
Acide tartrique libre	0 gr. 0 —
Acidité	5 gr. 3 —
Tannin	1 gr. 2 —
Sulfate de potasse	0 gr. 42 —

Vin à peine coloré en jaune.

Ces analyses appellent quelques observations au sujet de la richesse des vins en sulfate de potasse. Plusieurs dépassent la dose de 0 gr. 583 que l'on considère d'après les remarquables travaux de M. Marty, comme l'extrême limite de la teneur des vins naturels en SO^4K^2. Ces exceptions ne sont qu'apparentes.

Le vin du Midi n° 1 contient 0 gr. 64 de sulfate de potasse : mais cette richesse s'explique aisément par ce fait que la vendange a été phosphatée avec 250 gr. de phosphate bi-calcique par hectolitre. Or, ce phosphate, malgré les soins apportés à la fabrication, renferme toujours des traces de sulfates qui suffisent pour dépasser la limite d'une quantité très faible 0 gr. 06 par litre environ.

L'excès de sulfate de potasse est plus considérable dans l'échantillon

de vin de jacquez n° 2 qui n'a cependant reçu aucune addition de plâtre ou de phosphate, et que M. le Directeur de l'École d'agriculture de Montpellier m'a donné comme absolument pur. Ce vin renferme pourtant 0 gr. 74 de $SO^4 K^2$.

On peut attribuer à plusieurs causes cet excès notable : le soufrage contre l'oïdium, les sulfatages préventifs aux sulfates de fer et de cuivre, pour combattre la chlorose et le mildiew. Aussi bien, le soufre a peut-être d'autres origines : il en est une qui n'a jamais été mise en lumière et qui a, je crois, son importance, c'est l'emploi, universellement répandu dans le midi viticole, des engrais chimiques dont la base est le superphosphate de chaux. Ce produit, obtenu dans l'industrie par l'action de l'acide sulfurique sur des os ou des phosphates minéraux, renferme des quantités considérables, qui dépassent 50 0/0, de sulfate de chaux. Ce sel ainsi formé de toutes pièces, est pulvérulent, très attaquable ; on le dépose au pied de chaque cep, dans des conditions éminemment favorables à une assimilation rapide que la présence de l'acide phosphorique rend peut-être plus facile encore.

Je serai tenté d'expliquer par une cause analogue la teneur élevée en sulfate de potasse (0 gr. 82 par litre) du vin de Bordeaux n° 4. Ce vin a été acheté en Gironde, dans des conditions qui ne permettent pas de garantir sa pureté. On peut invoquer ici l'absorption des phosphates employés par le propriétaire qui a livré le vin ; mais on peut croire aussi à un coupage avec des vins plâtrés.

La doctrine des engrais chimiques, adoptée depuis longtemps par les pays de grande production viticole, l'Hérault et l'Aude, est moins généralisée dans le Bordelais : elle n'a pas encore pénétré en Bourgogne ; et les vignes d'où proviennent les échantillons 3 et 6 n'ont jamais reçu de superphosphate. Les doses de sulfate de potasse qui sont respectivement 0 gr. 34 et 0 gr. 42 entrent dans la règle établie par M. Marty, règle que les exceptions apparentes, signalées plus haut, confirment tout aussi bien.

Revenons à l'action des vins sur la pepsine.

Si, toutes choses égales d'ailleurs, on compare les résultats des digestions artificielles effectuées dans l'eau ou dans les vins, on constate, comme on pouvait le présumer, que l'action de la pepsine est notablement ralentie par les vins, quelles que soient leur origine et leur composition. Je n'ai pas constaté d'exception à cette règle dont voici quelques exemples.

Expérience I. — Température de l'étuve : 40°-41°.

Flacon A : Fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 15, eau distillée 50 gr.

Flacon B : Fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 15, vin blanc n° 5, 50 gr.

Flacon C : Fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 15, vin rouge du Midi n° 1, 50 gr.

Après 6 h. de contact à 40°-41°, la fibrine du flacon A est dissoute ; en B et C, flocons de fibrine inattaquée ; les trois liqueurs précipitent abondamment par l'acide azotique.

Après 22 heures : flacon A, trouble à peine perceptible.
— — B, trouble.
— — C, précipité.

Après 28 heures : flacon A............ Rien
— — B et C........ Troubles.

Expérience II. — Temp. 39°-40°.

Flacon A : Fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 15, eau distillée 50 gr.

Flacon B : Fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 15, vin rouge du Midi n° 1, 50 gr.

Après 16	heures :	flacon	A........	Trouble léger.
	—	—	B........	Précipité abondant.
24	—	—	A........	Rien.
—	—	—	B........	Précipité.
64	—	—	A........	Rien.
—	—	—	B........	Trouble.
96	—	—	A........	Rien.
—	—	—	B........	Trouble à peine perceptible.

Dans le deuxième essai, la présence de 50 gr. d'un vin ordinaire a quadruplé la durée d'une digestion ; il ne s'ensuit pas que le pouvoir digestif de la pepsine a diminué de 1 à 1/4. Pour tirer cette conclusion, il faudrait que la marche de la digestion fût uniforme, c'est-à-dire que, dans le cours d'une expérience, des quantités de fibrine égales fussent digérées dans des temps égaux : c'est peu probable. Ce qu'on peut

affirmer, d'après les expériences ci-dessus prises au hasard parmi beaucoup d'autres, c'est que le vin entrave la fermentation pepsique de la fibrine en peptone. Tous les vins n'exerçent pas cette action avec la même intensité.

EXPÉRIENCE III. — Temp. 37°,5.

Flacon A : fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 20, HCl 0 gr. 36, eau distillée 130 gr.

Flacon B: Fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 20, HCl 0 gr. 36, vin du Midi n° 1, 130 gr.

Après 16 heures :	flacon	A.......	Rien avec acide azotique.
—	—	B.......	Précipité.

Après 46 heures, la digestion n'est pas terminée dans le flacon B.

EXPÉRIENCE IV. — Temp. 39°.

Flacon A : Fibrine 3 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 075, vin du Midi n° 1, 25 gr.

Flacon B : Fibrine 3 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 075, vin de Jacquez n° 2, 25 gr.

Flacon C : Fibrine 3 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 075, Bourgogne rouge n° 3, 25 gr.

Flacon D : Fibrine 3 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 075, Bordeaux rouge n° 4, 25 gr.

Flacon E : Fibrine 3 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 075, Chablis n° 6, 25 gr.

Après 24 heures :	flacon	A......	Précipité avec l'acide azotique.
—	—	B......	—
—	—	C......	—
—	—	D......	Trouble.
—	—	E......	Trouble.
66	—	B, D, E.	Rien.
—	—	A et C..	Troubles légers.
72	—	A,B,D,E.	Rien
—	—	C......	Louche à peine sensible.

L'action retardante de ces vins sur la digestion pepsique a lieu dans l'ordre que voici : 1° Chablis ; 2° Bordeaux et Jacquez ; 3° Vin du Midi ; 4° de Bourgogne. En se reportant aux analyses, on voit que les vins les plus chargés en alcool, acide, extrait et tannin (Midi et Bourgogne) exercent l'action la plus marquée.

A la dose où ils existent dans les vins, le sucre (3 gr. par litre) et la glycérine (8 gr. par litre) n'agissent pas sur la pepsine. Les digestions artificielles avec des solutions sucrées ou glycérinées s'achèvent aussi rapidement que dans l'eau pure. Il n'en est pas de même des autres éléments.

Il s'agit d'apprécier la part qui revient à chacun d'eux.

II. — Action de l'alcool, de la crème de tartre, du sucre, de la glycérine et du tannin.

L'influence de l'alcool est connue depuis longtemps. Dans son remarquable travail, Petit a démontré que la pepsine gardait toute son activité, pourvu que le titre alcoolique fût abaissé à 5 %. Mais au-dessus, la digestion se ralentit ou s'arrête.

J'ai vérifié ces données et constaté que l'alcool était un des facteurs les plus importants de l'influence défavorable exercée par le vin sur l'activité de la pepsine.

Expérience V. — Temp. 40°.

Flacon A : Fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 20, HCl 0 gr. 36, eau distillée 130 gr.

Flacon B : Fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 20, HCl 0 gr. 36, vin du Midi débarrassé d'alcool par l'ébullition, puis neutralisé par l'ammoniaque, 130 gr.

Flacon C : Fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 20, HCl 0 gr. 36, vin du Midi n° 1, 130 gr.

Après 16 heures :	flacons	A, B, C.....	Précipitent par acide azotique.
21	—	A..........	Rien.
—	—	B..........	Trouble.
—	—	C..........	Trouble.

Après 25 heures :	flacon	A..........	Rien.
—	—	B..........	Louche.
—	—	C..........	Trouble.
46	—	A..........	Rien.
—	—	B..........	Rien.
—	—	C.	Louche.

Quoique privé de son acide, le vin sans alcool n'a retardé que de 5 à 6 heures la fin de la digestion. Dans le vin naturel au contraire le retard a été 5 fois plus considérable, malgré l'acidité de ce vin (6 gr. par litre).

Cette expérience mesure l'influence de l'alcool ; elle montre aussi que d'autres éléments interviennent, puisque la digestion est plus lente dans un vin privé d'alcool que dans l'eau pure.

La crême de tartre est un de ces éléments, elle sature une partie de l'acide chlorhydrique et lui substitue de l'acide tartrique moins actif : aussi, le vin privé d'alcool par l'ébullition et de crême de tartre par l'addition de chaux et de chlorure de calcium (1), se comporte-t-il presque à l'égal de l'eau.

Expérience VI. — Temp. 37°,5.

Flacon A : Fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 20, HCl 0 gr. 36, eau distillée 130 gr.

Flacon B : Fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 20, HCl 0 gr. 36, vin privé de tartrate et neutralisé, 130 gr.

Après 16 heures :	flacons	A et B...	Précipitent par l'acide azotique.
21	—	A.......	Louche à peine visible.
—	—	B.......	Léger louche.
25	—	A et B...	Rien.

Ici, le retard apporté par le vin à la digestion est très faible ; mais l'expérience montre qu'il existe dans le vin, en dehors de l'alcool et des tartrates, d'autres substances actives. Les unes favorisent peut-être la réaction, comme les acides libres; d'autres agissent en sens inverse et leur action est prédominante.

L'acide libre des vins, exprimé arbitrairement en SO^4H^2, paraît plus que suffisant dans la plupart des vins (2 à 8 gr.) pour déterminer la digestion; mais en réalité, cette acidité ne représente que des acides

(1) On s'est assuré par l'expérience que ce sel *neutre* était sans action sur la pepsine

très faibles ou plutôt des polyphénols à [fonctions multiples, des catéchines, des tannins, incapables de provoquer la fermentation pepsique, comme le prouve l'expérience suivante.

Expérience VII. — Temp. 37°-38°.

Flacon A : Fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 10, vin du Midi (acidité 5 gr. 34 par litre) 25 gr.

Après 40 heures la fibrine est restée intacte ; il ne s'en est pas dissout la moindre trace.

Si le vin privé d'alcool et de crème de tartre entrave l'action de la pepsine, c'est donc aux matières astringentes qu'il faut l'attribuer. Ce groupe d'éléments comprend l'œnotannin proprement dit et les couleurs. En se fixant sur les albumines, le tannin les transforme en un produit stable qui résiste à l'action de la pepsine. Petit avait observé ce fait pour l'acide gallotannique ; j'ai fait la même observation pour l'œnotannin.

III. — Action des matières colorantes naturelles et artificielles

Les observations cliniques faisaient pressentir l'influence défavorable de la couleur des vins naturels sur la digestion. Aucune preuve expérimentale n'en avait été donnée. Il faut l'attribuer aux difficultés que présente la préparation de la matière colorante du vin ou œnoline. En suivant le mode de préparation indiqué par M. A. Glénard, on obtient un produit très pur, mais le procédé est fort long et très dispendieux. Partant d'un point de vue différent, j'ai imaginé une méthode plus expéditive que je décrirai dans la seconde partie de ce travail.

Les expériences suivantes ont été faites avec de l'œnoline extraite du vin du Midi n° 1 provenant de cépages riches en couleur. L'œnoline n'étant pas soluble dans l'eau, quelques modifications ont été apportées aux expériences. Dans un premier ballon on introduit 5 gr. de fibrine et 50 gr. d'alcool à 44°; dans un second ballon 5 gr. de fibrine et 50 gr. du même alcool tenant en dissolution 0 gr. 081 d'œnoline pure, puis on chauffe ensemble les deux fioles au bain-marie jusqu'à décoloration de la solution d'œnoline. On obtient ainsi deux échantillons de fibrine lavés et préparés dans des conditions identiques l'un incolore, l'autre teint.

Expérience VIII. — Temp. 40°.

Flacon A : Fibrine incolore 5 gr., pepsine 0,10, HCl 0,15, eau distillée 50 gr.,

Flacon B ; Fibrine teinte 5 gr., pepsine 0,10, HCl 0,15, eau distillée 50 gr.

Après 7 heures :	flacon A............	Louche faible avec l'acide.
—	— B............	Précipité abondant.

Tandis que la dissolution est complète dans le flacon A, des flocons ntacts de fibrine colorée nagent dans le flacon B.

Après 24 heures .	flacon A............	Rien.
—	— B............	Trouble.

La digestion de la fibrine teinte n'a été terminée qu'après 150 heures ; elle a exigé 6 fois plus de temps.

Répétée avec des matières colorantes d'origines diverses, cette expérience a donné des résultats constants qui établissent et mesurent l'action défavorable de la couleur des vins sur la pepsine.

Si la matière colorante des vins naturels s'oppose à la digestion pepsique, que faut-il penser des couleurs introduites par fraude, produits végétaux ou dérivés de la houille ? La réponse à cette question est un élément de grand intérêt dans les controverses que soulève la coloration artificielle des vins.

Mes expériences ont porté sur des solutions aqueuses à 0 gr. 1, 0 gr. 5, 1 gr. et 2 gr. par litre des composés suivants préparés purs (1).

1° Rouge solide AA (action de l'α-naphtol sur l'α-naphtylamine diazoïquée et α-monosulfoconjuguée sodique);

2° Rouge solide BB ;

3° Rouge solide D ;

4° Jaune de naphtol (α-naphtol trisulfoconjugué sodique mono et dinitré);

5° Jaune solide (amido-azo-benzol di et trisulfoconjugué sodique);

6° Fuchsine acide (sulfoconjugué sodique de la fuchsine ordinaire);

7° Fuchsine ordinaire ;

(1) Je dois ces échantillons de couleurs à M. Knecht, directeur de l'usine de Neuville-sur-Saône à la Badische Anilin-und-Soda-Fabrik,

8° Azoflavine (dérivé nitré de l'orangé IV, lequel est le produit de l'action de l'acide sulfanilique diazoïqué sur la diphénylamine);

9° Orangé I (action de l'action sulfanilique diazoïqué sur la diphénylamine);

10° Bleu de méthylène;

11° Ponceau de xylidine (action de la xylidine diazoïquée sur le β-naphtol disulfoconjugué sodique R);

12° Bleu solide R (induline);

13° Safranine.

50 gr. de ces solutions étaient mis en contact avec 5 gr. de fibrine, 0 gr. 10 de pepsine, 0 gr. 15 HCl (T. 38°-40°); ou bien on faisait digérer, en présence de l'eau pure, la fibrine teinte par immersion dans les liqueurs colorées. Le résultat a été le même dans les deux cas.

A la proportion de 2 gr. pour 1000, les composés suivants n'exercent aucune action sur la digestion pepsique :

Rouge solide AA;	Jaune de naphtol;	Orangé I;
Rouge solide BB;	Jaune solide;	Ponceau de xylidine;
Rouge solide D;	Fuchsine acide;	Safranine.

Les matières colorantes ci-dessous entravent au contraire la digestion pepsique :

Fuchsine ordinaire;
Azoflavine;
Bleu solide (1).

Expérience IX. — Temp. 40°.

Flacon A : fibrine 5 gr., pepsine 0 g. 10, HCl 0 gr. 125, eau distillée 50 gr.

Flacon B : fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 125, fuchsine ordinaire (2 gr. pour 1000) 50 gr.

Flacon C : fibrine 5 gr., pepsine 0 g. 10, HCl 0 gr. 125, azoflavine (2 pour 1000) 50 gr.

(1) Le bleu de méthylène ne figure pas dans cette liste, l'intensité de sa coloration ne permettant pas de saisir la réaction finale avec une netteté suffisante. Il est *au moins suspect.*

Après 15 heures : flacon A... ne donne plus rien avec l'acide.
— — B et C précipitent.
— — B et C précipitent encore.

Après 40 heures, B (fuchsine) ne précipite plus; mais le flacon C fournit encore un léger louche qui ne cesse de se produire que 8 h. après.

Expérience X. — Temp. 38°.

Flacon A : fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 125, eau distillée 50 gr.

Flacon B : fibrine 5 g., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 125, solution de fuchsine à 2 gr. pour 10 litres, 50 gr.

Après 24 heures : flacon A... ne précipite plus avec l'acide.
— — B... se trouble.
Après 29 — — B... ne donne plus rien.

Expérience XI. — Temp. 38°

Flacon A : fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 05, HCl 0 gr. 08, eau distillée 50 gr.

Flacon B : fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 05, HCl 0 gr. 08, solution bleu solide (2 pour 1000) 50 gr.

Flacon C : fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 05, HCl 0 gr. 08, solution bleu solide (1 pour 2000) 50 gr.

Flacon D : fibrine 5 gr.. pepsine 0 gr, 05, HCl 0 gr. 08, solution bleu solide (1 pour 10.000) 50 gr.

Après 22 heures : flacon A... ne donne rien par l'acide.
— — B... précipité abondant.
— — C... trouble.
— — D... louche.
Après 25 heures : flacon B... précipité.
— — C... louche.
— — D... louche faible.
Après 31 heures : flacon B... louche très faible.
— — C et D ne donnent plus rien.

Laissant de côté le bleu solide et l'azoflavine, on voit que la fuchsine ordinaire agit énergiquement sur la digestion pepsique à la dose de 2 grammes par litre; son action très manifeste à 1 gr. par litre, se fait encore sentir à la dose de 2 gr. pour 10,000 dans des solutions moins colorées que la plupart des vins rouges.

Quand on fait digérer comparativement des échantillons de fibrine qui ont séjourné au contact de plusieurs variétés de vins ou d'une solution aqueuse de fibrine à 1/1000, la fibrine fuchsinée se digère plus difficilement. La différence est notable et s'élève quelquefois jusqu'à 1/3 de la durée totale, dans les conditions précitées.

L'azoflavine, le bleu solide et le bleu de méthylène sont dans le même cas.

Plusieurs matières colorantes végétales ne valent pas mieux; j'en ai essayé trois, la mauve noire, les baies de sureau, le maki. On fait des infusions de ces matières dans l'eau pure à la dose de 1 pour 100. Les liqueurs filtrées sont limpides, mais peu colorées; elles agissent quand même sur la digestion.

Expérience XII. — Temp. 38°.

Flacon A : fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 12, eau distillée 50 gr.

Flacon B : fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 12, infusion de mauve noire 50 gr.

Flacon C : fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 12, infusion de baies de sureau, 50 gr.

Flacon D : fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 12, infusion de maki, 50 gr.

Après 18 heures :	flacon	A.............	rien.
—	»	B.............	trouble.
—	»	C.............	louche.
—	»	D.............	trouble.
Après 20 heures :	»	B.............	trouble.
—	»	C.............	rien.
—	»	D.............	louche.
Après 23 heures :	»	B.............	rien.
—	»	D.............	louche.
Après 25 heures :	»	D.............	rien.

Ces trois matières colorantes agissent, comme l'œnoline du reste, pour ralentir la digestion pepsique.

IV. — Action du platrage

Bien que la discussion sur le plâtrage ait été soulevée il y a plus de trente ans (1), on ne trouve nulle part des indications précises touchant les effets des vins plâtrés sur la digestion pepsique.

Les travaux de Bérard, Chancel et Cauvy, puis de Magnier de la Source, et tout dernièrement les recherches, peut-être contestables, de Roos et Thomas (2), ont établi la réaction qui suit l'addition du plâtre. La moitié de la crême de tartre se trouve précipitée dans des lies à l'état de tartrate de chaux insoluble : le vin clarifié contient alors de l'acide tartrique.

Mais ce qu'il faut retenir c'est qu'un des éléments qui, en saturant l'acide chlorhydrique, contribue à ralentir la digestion, se trouve éliminé par le plâtrage. On peut en conclure *à priori* que le vin plâtré est moins défavorable à l'action de la pepsine que le vin non plâtré ; c'est ce que l'expérience vérifie.

Expérience XIII. — Temp. 38°.

Flacon A : fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 10, eau distillée 50 gr.

Flacon B : fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 12, vin du Midi n° 1 non plâtré 50 gr. ($SO^4K^2 = 0.640$).

Flacon C : fibrine 5 gr., pepsine 0 gr. 10, HCl 0 gr. 12, vin du Midi n° 1 plâtré 50 gr. ($SO^4K^2 = 2,942$).

Après 18 heures :	flacon	A... ne donne rien avec acide.
»	»	B et C précipitent abondamment.
Après 24 heures :	»	B... donne un précipité.
»	»	C... donne un trouble.
Après 50 heures :	»	B... donne un précipité.
»	»	C... ne donne rien.
Après 90 heures :	»	B... donne encore un léger louche.

(1) P. Hugounenq, *Journ. de Ph. et de Ch.*, 1857.

(2) Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 20 octobre 1890.

Le plâtre diminue par conséquent l'action nuisible des vins sur la pepsine; dans l'expérience ci-dessus, la durée de la digestion a été réduite de moitié environ. Cette expérience sera probablement invoquée par les partisans du plâtrage comme un argument en faveur de leur pratique : il est essentiel qu'on n'en exagère pas la portée. Dans la digestion stomacale, la pepsine n'est en somme qu'un facteur, et l'avantage que paraissent avoir à cet égard les vins plâtrés, ne fait pas disparaître les autres inconvénients.

En résumé, et sans insister sur l'action connue de l'alcool et de la crême de tartre, les résultats nouveaux acquis dans ce travail sont les suivants :

1° Tous les vins sans exception gênent l'action de la pepsine; les plus chargés en alcool, crême de tartre, sont les plus nuisibles.

2° Parmi les éléments du vin naturel, les matières colorantes agissent de concert avec la crême de tartre et l'alcool, pour ralentir la digestion pepsique ou l'arrêter.

3° L'acidité des vins normaux est impuissante à provoquer l'action de la pepsine : dans la plupart des cas elle ne paraît pas l'aider.

4° Parmi les matières colorantes introduites frauduleusement dans les vins, le bleu de méthylène, l'azoflavine, le bleu solide et surtout la fuchsine entravent la digestion pepsique.

Les colorants végétaux, mauve noire, sureau, maki, exercent, comme l'œnoline, une action nuisible.

5° En supprimant une partie de la crême de tartre, le plâtrage enlève au vin naturel un élément qui ralentit l'action de la pepsine *in vitro*. La digestion est plus rapide en présence des vins plâtrés qu'en présence des vins naturels. Cet avantage ne saurait être un argument décisif pour apprécier les effets du vin plâtré sur l'organisme.

En effet, des expériences précédentes on ne peut induire aux phénomènes beaucoup plus compliqués de la digestion stomacale. Celle-ci est une opération physiologique où interviennent les effets mécaniques des mouvements de l'estomac, l'absorption plus ou moins rapide des matières alimentaires, enfin et surtout le système nerveux qui est le régulateur tout puissant du mécanisme. C'est lui qui commande à la sécrétion de la pepsine et de l'acide, aux contractions musculaires, aux phénomènes d'osmose : la chimie de l'estomac est donc placée sous son étroite dépendance et les réactions chimiques sont modifiées par lui

dans de si larges limites, que les résultats d'une expérience *in vitro* ne sauraient être immédiatement applicables à la physiologie.

On rapprocherait plus volontiers la digestion artificielle de certaines digestions pathologiques. Quand les contractions musculaires se font mal, quand l'absorption est imparfaite, quand les matières séjournent longtemps, on réalise, dans une certaine mesure, les conditions simples et, pour ainsi dire, schématiques d'une digestion artificielle. Mais alors des phénomènes particuliers interviennent : des micro-organismes provoquent des fermentations qui modifient profondément le milieu; enfin l'action nerveuse ne s'efface jamais, de sorte que, même dans ce cas, la digestion stomacale diffère sur beaucoup de points de l'expérience *in vitro*.

Si de l'influence nocive des éléments du vin sur la fermentation pepsique, on concluait que l'influence du vin est constamment défavorable, on commettrait une erreur grossière que l'observation des faits redresserait bien vite. L'alcool, par exemple, arrête la fermentation pepsique ; mais son absorption est plus ou moins rapide chez des sujets différents ou, suivant les cas, sur un même sujet; et l'action, pourtant prépondérante de ce facteur, se trouve ainsi diminuée au point de disparaître complètement. Quelquefois même, l'alcool agit sur les glandes pour favoriser la sécrétion du ferment, de sorte qu'une substance qui s'oppose à l'action chimique de la pepsine peut devenir un agent physiologique favorable ou nécessaire à la digestion stomacale.

Il faut donc apporter beaucoup de réserve dans l'application des résultats précédents au chimisme de l'estomac. Les expériences que j'ai exposées, ne sont pas applicables *à priori*, mais je crois qu'elles peuvent éclairer quelques faits d'observation clinique; elles n'établiraient d'ailleurs que la différence qui sépare la chimie du laboratoire des réactions intra-organiques, qu'elles présenteraient encore un certain intérêt.

DEUXIÈME PARTIE

Recherches sur le dosage de l'œnotannin. Méthode de préparation et propriétés nouvelles de l'œnoline.

I. — Dosage des matières astringentes du vin.

L'œnotannin et la matière colorante du vin enrayant la digestion pepsique, le dosage exact de ces principes acquiert une importance très grande, non seulement pour poursuivre des recherches scientifiques, mais encore pour apprécier l'influence d'un vin quelconque sur la digestion.

Malheureusement, la détermination exacte des substances astringentes dans le vin, est un problème qui attend une solution complète. Exception faite du procédé de M. A. Gautier (1) que je n'ai pas essayé, j'ai mis en pratique presque tous les autres : aucun ne donne des résultats absolument satisfaisants.

L'instruction officielle allemande sur l'analyse du vin recommande la méthode suivante adoptée dans quelques laboratoires français : « On sature partiellement par un alcali 10cc de vin ordinaire de manière à ne laisser qu'une acidité correspondante à 3 grammes par litre en SO^4H^2 : on ajoute 1cc d'acétate de sodium à 10 %, puis, goutte à goutte tant qu'il se fait un précipité, une solution de perchlorure de fer à 10 % dont une goutte = 0 gr. 05 de tannin. Les vins jeunes sont dépouillés d'acide carbonique par l'agitation. » Les chimistes allemands qui ana-

(1) Il est basé sur la précipitation des tannins à l'état de tannates de cuivre, et la détermination de la quantité d'oxygène absorbée par ces combinaisons.

lysent surtout des vins blancs, peuvent peut-être tirer quelque profit de cette méthode, et cependant, même dans les cas les plus favorables, elle m'a paru défectueuse.

J'ai essayé de doser une solution aqueuse de tannin ordinaire à 1 gr. par litre, acidifiée ou non à 3 gr. SO^4H^2, et additionnée d'acétate de soude : il est impossible d'apercevoir la réaction finale. Des expériences répétées, faites avec 4, 8, 12, 16, 20 gouttes de perchlorure de fer, donnent un liquide qui, après filtration, présente une teinte également brune et dans lequel la réaction finale n'est pas perçue.

Résultats analogues avec des vins blancs.

Avec les vins rouges, surtout avec les vins du Midi (Bouschet, Alicante, etc.,) l'addition d'une seule goutte de réactif forme, même avec les vins dilués, une encre noire qui ne permet plus de saisir la fin du dosage. On peut essayer de tourner la difficulté par un artifice. Je ne citerai qu'un exemple.

Dans 7 verres à expérience on verse 10^{cc} de vin du Midi n° 1 et 1^{cc} d'acétate de soude à 4 $^0/_0$: on ajoute ensuite 5 gouttes de perchlorure de fer dans le premier, 10 gouttes dans le second, 15 gouttes dans le troisième et ainsi de suite. Après agitation, on filtre. Le liquide du verre n° 2 qui a reçu 10 gouttes, passe légèrement coloré en rose lilas et précipite par une goutte de persel de fer : la liqueur n° 3 (15 gouttes) est grise ; le perchlorure de fer ne paraît pas donner de précipité : la teinte brunit.

On prépare alors une nouvelle expérience avec cinq verres contenant chacun 10^{cc} de vin et 1^{cc} d'acétate ; on verse dans chacun d'eux 10 gouttes de perchlorure de fer pour le premier, 11 pour le second et ainsi de suite. Les deux premiers liquides (10 et 11 gouttes) laissent passer à la filtration un filtratum légèrement rose, précipitant par le perchlorure ; tandis que le liquide du verre n° 3 (12 gouttes) est gris, ne semble pas donner de précipité et se colore seulement en brun.

D'après ces expériences, il semble que la réaction finale soit comprise entre la 11me et la 12me goutte, soit 11 gouttes 5, ce qui donne une richesse de 0 gr. 05 $\times$ 11,5 = 0 gr. 575 de tannin par litre.

Le dosage ne réussit pas aussi bien avec tous les vins ; de plus, ce résultat ne doit pas être accepté sans réserve. En effet, par des méthodes qui méritent au moins autant de confiance, le même vin a donné 2 gr. 1 et 1 gr. 9 de tannin par litre au lieu de 0 gr. 575. Enfin, quand le perchlorure de fer cesse de précipiter, il continue à colorer la liqueur que des additions successives de réactif brunissent de plus en

plus. Il reste donc en solution des composés probablement phénoliques, des catéchines, des tannins dont le sel ferrique est soluble, très coloré et que l'analyse ne détermine pas. La méthode au perchlorure de fer, souvent impraticable, est donc d'une exactitude au moins douteuse, dans les cas les plus favorables.

Le procédé le plus employé pour doser les matières astringentes du vin, est celui d'Aimé Girard, il consiste à doser (1) l'eau d'un poids déterminé (5 gr. environ) de cordes de violon dégraissées à l'éther. On pèse la matière sèche et on l'immerge, après l'avoir divisée en fragments, dans 100[cc] de vin, étendus d'eau si c'est nécessaire. Après 24 ou 48 heures de contact, on retire les cordes du liquide incolore ou très-légèrement rose ; on les pèse après lavage et dessication, l'augmentation de poids représente le tannin fixé.

Ce procédé présente plusieurs inconvénients; il est long, assez dispendieux (2), l'exactitude n'en est pas toujours rigoureuse ; enfin, il est absolument impraticable avec les vins teinturiers du Midi.

Par un grand nombre d'expériences j'ai pu me convaincre que, même après un mois de contact, en employant 25[cc] de vin étendus à 100[cc] et 5 gr. de cordes, non seulement la décoloration n'était pas complète, mais, à l'œil, le liquide ne paraissait pas avoir perdu de son intensité colorante, bien que les cordes fussent teintes. Tous les vins qui contiennent du vin de Jacquez et des hybrides Bouschet ont présenté cette particularité qu'on pourrait peut-être invoquer comme un caractère spécifique.

On a substitué plusieurs substances albuminoïdes aux cordes de violon. M. Cazeneuve a indiqué les râpures de peau, les râclures de cornes extrêmement minces et transparentes, telles qu'on les obtient en râclant doucement une corne de bœuf avec un canif. Ces matières, avantageuses dans bon nombre de cas, se comportent comme les cordes de boyaux vis-à-vis des vins très-chargés en couleur; elles diminuent à peine la puissance colorante, même après un contact de plusieurs semaines.

J'ai constaté qu'une seule substance permet d'atteindre la décoloration à peu près complète, c'est la fibrine de mouton ou de bœuf, lavée et conservée dans la glycérine. On lave un échantillon de 15 gr. environ de fibrine par un courant d'eau froide : on exprime dans un

(1) 11 à 12 % environ.

(2) 18 à 20 gr. de cordes de violon coûtent cinq francs et ne représentent que quatre dosages au maximum.

linge, et on soumet la matière pendant quelques minutes à l'action de l'eau bouillante chargée de quelques centièmes d'émétique. La fibrine émétisée est lavée à grande eau, puis essorée : on la divise ensuite en deux parties : un tiers est consacré au dosage de l'eau (1) à 110° ; le restant, exactement pesé, est immergé dans 30 ou 40^{cc} de vin étendu à 100^{cc}. Après quelques jours à froid, les vins les plus chargés que j'ai examinés ne présentaient qu'une teinte rosée (2). On retire la fibrine, et, après lavage et dessication on, la pèse; l'excès de poids représente le tannin et les couleurs.

Ce mode opératoire permet d'aboutir à un résultat assez satisfaisant dans la plupart des cas, bien qu'il suppose que dans un paquet de fibrine essorée tous les fragments sont également humides, ce qui n'est pas absolument exact.

Beaucoup plus simple est le procédé indiqué récemment par MM. Roos, Cusson et Giraud (3); il est basé sur la précipitation des matières astringentes par l'acéto-tartrate de plomb ammoniacal qui ne précipite pas les autres éléments du vin. On sature par un léger excès d'ammoniaque une solution à 10 °/$_o$ d'acide tartrique, on y verse ensuite l'acétate neutre de plomb jusqu'à ce que le précipité plombique cesse de se dissoudre par agitation; on filtre. A 10^{cc} d'une solution titrée de tannin à 2 gr. pour 1000 par exemple, légèrement alcalinisés par l'ammoniaque, on ajoute, à l'aide d'une burette, le réactif plombique jusqu'à obtention de la réaction finale. Pour cela, on prélève de temps en temps une goutte de la liqueur au bout d'une baguette de verre et on la dépose sur une feuille de papier filtre doublée : tout à côté, à 1 cent. environ, on dépose une goutte d'une solution à 5 °/$_o$ de sulfure de sodium, de telle sorte que les auréoles formées par les deux liquides se rencontrent. Tant qu'il reste du tannin dans la liqueur, le plomb forme un composé insoluble qui reste sur le papier et ne gagne pas l'auréole; dès que le réactif plombique est en excès, le métal en solution est entraîné au contraire, il se répand, et, à la rencontre du sulfure alcalin, donne une auréole qui brunit. L'opération renouvelée avec 10^{cc} de vin alcalinisé, permet d'apprécier la teneur du vin en matières astringentes, calculées en tannin de chêne.

Ce procédé, simple et expéditif, est au moins aussi exact que les autres

(1) La fibrine lavée, essorée, contient 63 °/$_o$ d'eau environ.

(2) Je n'ai jamais observé la décoloration complète.

(3) *Journal de pharmacie et de chimie*, 1890, p. 61.

et leur est souvent préféré avec raison. Il présente cependant un certain nombre de causes d'erreur.

La fin de la réaction est assez difficile à saisir; la teinte brune n'apparaît pas tout de suite, et l'hésitation se poursuit pour un certain nombre de gouttes. De plus, la durée de l'opération influe sur le résultat. Ainsi, pour le titrage d'un vin de Jacquez, prolongé à dessein pendant vingt minutes, on a pu ajouter par demi-centimètre cube, 40 cent. cubes de réactif sans obtenir l'auréole brune, alors que 18 cent. cubes ajoutés d'un seul coup permettaient d'observer la réaction finale, après agitation bien entendu.

Ce fait s'explique probablement par la grande oxydabilité des tannins en liqueur alcaline; l'ammoniaque colore énergiquement les tannins et il se forme peut-être à l'air des acides qui exigent pour être saturés des quantités de plus en plus grandes de plomb. Le précipité noircit en effet, et, dans un dosage, après avoir ajouté au tannin alcalinisé du réactif également alcalin, j'ai pu constater la réaction acide du mélange.

Les précipités plombiques obtenus avec le tannin de chêne par l'acéto-tartrate n'ont pas une composition constante ; en faisant varier les proportions du réactif, mais en employant toujours un excès, j'ai obtenu des précipités pour lesquels le rapport $\frac{\text{Tannin}}{\text{Pb}}$ variait de $\frac{100}{141}$ à $\frac{100}{170.8}$. Pour le tannate tri-plombique $C^{14}H^{4}Pb^{3}O^{9}$ le rapport $\frac{\text{Tannin}}{\text{Pb}} = \frac{100}{128}$. Les précipités que détermine l'acéto-tartrate en excès paraissent donc être des mélanges des deux sels étudiés par Schiff, les tannates bi et tribasiques. Avec la matière colorante du vin à l'état de pureté on obtient également des précipités non définis, de composition variable, et qui paraissent formés par les deux sels bi et tri-basiques. Je reviendrai sur ce dernier point ; mais il ne faut pas se dissimuler que l'analyse de ces dérivés ne peut guère conduire à des résultats précis, à cause de l'altération de l'œnolinate et du tannate tri-plombiques dans l'eau froide qui leur enlève du plomb.

Le calcul des résultats en tannin gallique ne donne pas non plus la quantité exacte des matières astringentes contenues dans le vin : en admettant que l'œnotannin incolore se comporte comme le tannin de chêne vis-à-vis du réactif plombique, l'œnoline pure agit tout autrement, et, à poids égal, elle fixe moins de plomb. Le calcul basé sur les poids moléculaires, et l'expérience directe m'ont démontré que les résultats trouvés en acide gallo-tannique, quel que soit le procédé d'analyse,

doivent être augmentés de 40 0/0 environ pour représenter les matières astringentes du vin en œnoline pure, ce qui du reste est tout aussi arbitraire que le mode de calcul habituel.

Enfin, il faut compter avec la méthode de Roos sur une autre cause d'erreur. Les auteurs du procédé se sont assurés que les eaux de lavage des cendres du vin n'agissent pas sur l'acéto-tartrate plombique ; ils en concluent que les sels minéraux du vin n'ont aucune action sur le réactif et ne peuvent fausser les résultats.

Cette preuve n'est pas décisive : pendant l'incinération de l'extrait, des sels, à l'état soluble dans le vin, peuvent en effet se transformer en sels insolubles et par conséquent ne plus figurer dans les eaux de lavage. C'est justement ce qui a lieu pour les phosphates, et, au laboratoire de M. Cazeneuve, M. Nicole a constaté que les phosphates précipitaient l'acéto-tartrate plombique ; le réactif est même d'une grande sensibilité, et nous avons obtenu avec le réactif de Roos des précipités marqués avec des solutions ne renfermant que des traces de phosphates. Quand il s'agit des vins ordinaires, ne contenant que peu d'acide phosphorique, l'erreur est négligeable, elle est plus faible que les autres causes d'erreur inhérentes au procédé opératoire lui-même. Mais avec des vins clarifiés au phosphate de chaux et donnant à l'analyse 1 gr. et 1 gr. 5 d'acide phosphorique par litre, il n'en va pas de même, l'erreur atteint 12 0/0 ; le procédé n'est plus applicable.

J'ai tenu à étudier la méthode de Roos,parce qu'elle m'a paru mériter une étude spéciale. Malgré les inconvénients inhérents à la difficulté du sujet, cette méthode offre en effet de tels avantages qu'elle se généralisera sans doute ; il m'a paru utile de préciser les conditions de son emploi et d'établir les causes d'erreur qu'elle comporte.

En résumé, dans la plupart des cas, et surtout dans la pratique courante, c'est un procédé imparfait sans doute, mais facile et avantageux, sauf dans l'analyse des vins phosphatés.

Cependant, pour des recherches exigeant quelques précisions, il semble qu'on pourrait attendre plus d'exactitude de la méthode de Girard avec les modifications que j'ai indiquées. L'expérience seule permettra de se prononcer. Pour porter un jugement, il faudrait établir des examens comparatifs que je n'ai pas faits et d'où il n'est pas sûr que la méthode de Roos ne sortirait pas avec avantage.

II. — Matière colorante du vin naturel

C'est M. A. Glénard qui, en 1858, a indiqué le premier un bon procédé d'obtention de la matière colorante du vin qu'il a appelée *œnoline.* Le vin est précipité par le sous acétate de plomb, le précipité bleu est recueilli, lavé et soumis à la dessication à 100°-110° : on le traite alors par une quantité d'éther anhydre chargé d'acide chlorhydrique, suffisante pour saturer l'oxyde de plomb : on épuise ensuite par de l'éther jusqu'à ce que celui-ci ne présente plus de réaction acide. Dans l'éther de lavage M. A. Glénard signale un corps gras, une matière cireuse, le tannin, l'acide tartrique et « un acide cristallisé, fusible et volatil sans décomposition, sans résidu », que M. A. Glénard ne désigne pas autrement, mais qui parait être l'acide succinique que Schunk (1), puis Schmidt en 1848 (2), enfin M. Pasteur (3) venaient de découvrir parmi les produits de la fermentation alcoolique du sucre.

Le précipité lavé à l'éther et débarrassé de ce menstrue par évaporation à l'air libre, est mis à digérer avec de l'alcool à 36°. On filtre et épuise le résidu solide par de l'alcool tant que celui-ci passe coloré. La solution alcoolique, colorée en rouge, est distillée au bain-marie. Le résidu est alors additionné de quatre à cinq volumes d'eau distillée. Les flocons de matière colorante qui se séparent, sont recueillis, lavés et séchés à basse température. Si le précipité plombique a été parfaitement débarrassé des acides par l'éther, l'eau pure précipite presque toute la matière colorante ; mais, s'il reste des acides dans la liqueur alcoolique finale, l'eau ne sépare l'œnoline qu'incomplètement.

J'ai appliqué ce procédé, légèrement modifié par M. A. Gautier, à l'extraction de l'œnoline de 18 litres de vin du Midi. Il fournit d'excellents résultats, surtout si on supprime la distillation de la solution alcoolique. J'ai constaté en effet, que, même en opérant à basse température et sous pression réduite, l'œnoline s'altérait et se précipitait au fond de la cornue sous forme de paillettes amorphes, brunes rouges, qui ne se dissolvent plus que difficilement dans l'alcool, en donnant une couleur

(1) *Handwœrterbuch der Ch. von Liebig*, t. I. p. 1259.
(2) *Hand. d. Ch. v. L.* t. III, p. 224.
(3) *Comptes rendus*, t. 46, p. 179.

peu riche et sans éclat. En substituant à l'alcool à 36° de l'alcool à 65°, on peut sans évaporer précipiter la solution directement par l'addition de 15 à 20 volumes d'eau distillée. On perd l'alcool, il est vrai, et même un peu d'œnoline qui reste dissoute, mais le produit n'a pas subi l'action de la chaleur et il est inaltéré.

Dans l'expérience que je viens de citer, 18 litres de vin du Midi (1) ont donné 514 gr. de précipité plombique sec dosant 64,5 °/₀ de PbO. Il a fallu 1,300 gr. d'éther anhydre à 91 gr. HCl par litre pour saturer le plomb. Le lavage de la matière a exigé 7 à 8 litres d'éther pur; l'opération a duré plus d'un mois et a donné 4 gr. 5 de matière pure.

Comme on le, voit cette méthode est longue et assez dispendieuse.

J'ai imaginé un procédé moins coûteux et surtout plus rapide, à l'aide duquel la préparation de la matière colorante d'un vin quelconque devient une opération de laboratoire courante.

Je me suis servi du réactif de Roos, solution à 1/10me d'acide tartrique qu'on neutralise par un léger excès d'ammoniaque et additionne d'acétate neutre de plomb jusqu'à ce que le précipité plombique cesse de se dissoudre. On laisse déposer et on filtre : on verse alors ce réactif dans le vin neutralisé par l'ammoniaque, jusqu'à cessation de précipité.

Ce précipité, recueilli et lavé, est mis en suspension dans une petite quantité d'alcool à 80°. On ajoute alors goutte à goutte de l'acide sulfurique dilué (15 0/0 environ) en évitant un excès. La liqueur prend immédiatement une teinte rouge intense, tandis que le sulfate de plomb blanc se précipite ; on le sépare par le filtre, après un dépôt de quelques heures. La solution alcoolique qui passe magnifiquement colorée, est additionnée de 20 fois son volume d'eau pure. Presque toute la matière colorante se précipite aussitôt. On la recueille, et après lavage, on la sèche à basse température. Si on voulait la purifier, il suffirait de reprendre par l'alcool et d'évaporer ensuite la solution dans le vide, sur l'acide sulfurique.

Cette méthode peut s'appliquer avec succès à l'extraction de la matière colorante des lies. Voici les résultats d'une expérience : on délaye 1 kilogr. de lies du commerce dans 2 litres d'eau distillée contenant 300 gr. d'acide sulfurique, on ajoute 8 litres d'alcool à 50° et on laisse macérer 4 jours. On passe sur un linge, puis on filtre au papier.

(1) Vignes françaises jeunes (Bouschet, Alicante) sur plants américains, et plants américains producteurs directs (Jacquez).

La solution hydro-alcoolique fortement colorée est neutralisée par l'ammoniaque, puis précipitée par l'acéto-tartrate. On termine l'opération comme ci-dessus. On a employé dans cette opération un volume de solution représentant 33 gr. d'acide tartrique. Le rendement a été de 6 gr. 20 d'œnoline pure et sèche.

Il est remarquable qu'après ce traitement les lies insolubles qui forment le marc, sont aussi colorées qu'auparavant : mais si on essaie de les soumettre à un nouvel épuisement par l'alcool acidulé, on n'obtient plus que des quantités de matière insignifiantes. En outre, la précipitation par l'eau n'est jamais complète, les liqueurs passent toujours colorées, surtout si on n'a pas évité l'excès d'acide sulfurique.

Grâce à cette méthode, on peut isoler rapidement la matière colorante d'un vin suspect à l'état de pureté et faciliter beaucoup la recherche très délicate des colorants végétaux. Depuis que M. Cazeneuve a fait connaître une méthode d'analyse des couleurs du goudron qui rend cet examen aussi facile et aussi sûr qu'une opération d'analyse minérale, la falsification des vins est revenue aux anciennes pratiques. Les dérivés de la houille sont délaissés pour les couleurs végétales, le sureau, la mauve noire dont la diagnose est des plus difficiles.

La méthode que j'ai décrite permet d'isoler le principe colorant des baies et des fleurs qui servent à falsifier les vins. Dirigée dans cette voie nouvelle, l'étude de ces matières pures permettra sans doute d'établir des caractères différentiels : c'est un travail que je poursuis actuellement.

Quel que soit le mode de préparation, l'œnoline ne constitue pas une espèce chimique définie, quand il s'agit de vins provenant de cépages très différents, comme ceux que j'ai examinés.

En effet, l'œnoline extraite pour la première fois par M. Glénard provenait d'un vin de Gamay ; à l'analyse, elle donnait des résultats concordants avec la formule $C^{10} H^{10} O^{5}$ ou un multiple, peut-être $C^{20} H^{20} O^{10}$. M. A. Gautier a retiré des divers cépages des principes voisins, mais non identiques : l'œnoline de la Carignane serait $C^{21} H^{20} O^{10}$, celle du Grenache $C^{23} H^{22} O^{10}$; de même pour le *pineau*, le *teinturier* et autres cépages, sauf l'*Aramon* dont la matière colorante diffère des précédentes (1). Les vins renferment aussi, d'après M. Gautier, des composés azotés et ferrugineux analogues aux précédents, y compris la matière colorante violette ou *œnocyanine*, de Mulder.

(1) A. Gautier, *Comptes Rendus*, 1878 et *Dict. Würtz*. Art. Vins

Je me bornerai à décrire la matière colorante que j'ai isolée du vin ou des lies, sans parler des propriétés déjà connues.

L'œnoline pure chauffée se boursoufle ; elle donnée à l'incinération pour 1 gr. 133 de matière 0 gr. 006 soit 5 ‰ de peroxyde de fer, sans trace de manganèse. Le produit sec est une poudre amorphe, brun-rouge, insoluble dans l'eau pure, à peu près insoluble dans l'alcool à divers degrés de concentration, quand le produit n'a pas été au préalable broyé finement et transformé par quelques gouttes d'alcool en une pâte homogène qu'on délaie peu à peu dans un excès de dissolvant; la solubilité est alors très grande. La solution alcoolique est magnifiquement colorée en rouge éclatant et reproduit la couleur des vins du Midi les plus riches; mais, après quelques mois, l'œnoline pure et sèche vieillit, elle devient plus difficilement soluble dans l'alcool, la liqueur est moins éclatante et vire à la teinte rouge pelure d'oignon des vins de Bordeaux très-vieux.

Cette altération ne saurait être attribuée à l'action de l'air ou de la lumière, car elle se produit dans des flacons bouchés et placés dans l'obscurité complète. Le phénomène est probablement dû à une condensation moléculaire analogue et peut-être identique à celle qui se produit en quelques heures, lorsqu'on chauffe au bain-marie des solutions alcooliques de matière colorante. M. Glénard avait déjà constaté cette transformation, par action de la chaleur, en un produit brun-noirâtre, terne, léger, insoluble dans l'alcool. Pour expliquer cette particularité, il faudrait connaître la formule de constitution des œnolines qui n'est encore qu'ébauchée ; en raisonnant par analogie, on peut cependant émettre à ce sujet quelques idées vraisemblables.

Les considérations suivantes que M. Cazeneuve m'a communiquées, me paraissent très justes : « Il est aujourd'hui démontré que toutes les matières tinctoriales qui se fixent directement sur les fibres textiles, renferment soit le groupement phénolique OH, soit le groupement amidogène AzH^2. Ce fait a reçu tout dernièrement de M. Vignon la confirmation de données thermochimiques précises et l'expérience ne l'a jamais démenti. Or, le vin nouveau teint directement la soie : avec le temps la fixation de la couleur devient de moins en moins énergique; et sur les vins faits et surtout vieux, il est impossible de l'observer.

Avec l'œnoline qui mord sur soie et qui d'ailleurs n'est pas azotée, il ne saurait être question de groupement amidogène : c'est donc à un groupement phénolique qu'il faut attribuer le phénomène de teinture directe, ce qui s'accorde du reste parfaitement avec ce qu'on sait de

la constitution de ces matières. D'après ce qui précède, les fonctions phénoliques de l'œnoline pure disparaissent lentement à froid, rapidement à chaud, et, suivant toutes probabilités, cette disparition est corrélative d'une condensation moléculaire avec soudure par les groupements phénoliques. »

J'ai obtenu avec l'œnoline préparée par le procédé indiqué plus haut, presque toutes les réactions que M. A. Glénard a fait connaître, avec quelques différences cependant qui proviennent de ce que nos deux produits avaient des provenances différentes et n'étaient pas identiques. Ainsi, j'ai signalé la présence du fer dans la matière colorante que j'ai préparée, alors que l'œnoline de M. Glénard n'en renferme pas. De plus, cet auteur en précipitant l'œnoline en solution hydro alcoolique par l'acétate neutre de plomb a obtenu un sel neutre parfaitement défini, $C^{20}H^{18}O^{10}Pb$.

J'ai voulu examiner de près le précipité qu'on obtient par la méthode de Roos, en traitant les vins par l'acéto-tartrate de plomb ammoniacal. Plus haut se trouvent quelques renseignements sur la composition des tannates de plomb obtenus par cette voie avec l'acide gallotannique pur. On se rappelle peut-être que ces précipités altérables sont des mélanges de plusieurs sels basiques. L'œnoline se comporte de même. Quand on précipite ses solutions alcooliques neutralisées par l'ammoniaque à l'aide du réactif de Roos ou simplement par l'acétate neutre, mais en employant toujours un excès de liqueur plombique, on obtient aussi des œnolinates plus riches que le sel monoplombique. J'ai préparé, suivant les conditions, des sels où l'analyse démontrait le rapport $\frac{\text{œnoline}}{\text{Pb}} = \frac{100}{63}$ et $\frac{100}{104}$. En admettant la formule de M. A. Glénard, $C^{20}H^{20}O^{10}$ on aurait pour le sel monoplombique $\frac{100}{49{,}5}$; pour le sel diplombique $\frac{100}{98{,}5}$, et pour le dérivé triplombique $\frac{100}{147}$. L'œnoline précipitée par les sels de plomb donne donc des sels basiques mal définis, si on emploie un léger excès de réactif ; ce qui concorde bien avec les observations présentées au cours de ce travail à propos de la méthode de MM. Roos, Cusson et Giraud.

La baryte précipite l'œnoline et ne paraît pas former de sel basique : malheureusement, le composé qu'on obtient abandonne de la baryte aux eaux de lavage ; les analyses ne sont pas satisfaisantes;

Quant aux sels d'argent, ils sont brunis ou noircis par l'œnoline, sans fournir de précipité.

Ponr doser les solutions d'œnoline,il faut avoir recours à l'évaporation dans le vide, sur l'acide sulfurique, d'un volume déterminé de liqueur placé dans un petit vase en verre taré au préalable. Il est bon d'évaporer à l'abri de la lumière.

On peut cependant titrer l'œnoline avec une solution de soude décime-normale, en opérant comparativement avec une solution fraîche, de titre connu. Bien que l'œnoline doive être en solution alcoolique, la présence de l'alcool ne gêne pas trop. L'œnoline sert elle-même de réactif indicateur : quand la teinte rose disparait entièrement du liquide, l'opération est terminée. On peut du reste interroger le liquide au papier de tournesol ou ajouter une goutte de phtaléine du phénol ; dans ce cas, une correction, établie par une expérience préliminaire, est indispensable.

Avec un peu d'habitude, on obtient des résultats satisfaisants en opérant sur 20^{cc} d'une solution d'œnoline dans l'alcool à 60°. Dans une expérience sur 18^{cc} d'une solution titrée par pesée à 2 gr. 28 d'œnoline pure par litre, j'ai trouvé 2 gr. 13, en admettant qu'un cent. cube de solution décime normale représente 0.002 d'œnoline.

En résumé, dans la seconde partie de ce travail, j'ai exposé :

1° Un examen critique de plusieurs procédés pour doser les tannins et les matières colorantes du vin. J'ai établi les causes d'erreur de ces procédés, fixé les conditions où ils étaient applicables et modifié l'un d'entre eux, celui de M. A. Girard, pour les cas particuliers où la méthode primitive ne fournit pas de résultats ;

2° Un nouveau mode opératoire simple et expéditif pour extraire d'un vin les matières colorantes et les soumettre à une étude comparative avec les matières colorantes végétales,ajoutées frauduleusement, et qu'on peut extraire par le même procédé ;

3° Quelques recherches et idées nouvelles touchant les propriétés, l'altération et le dosage de l'œnoline.

Vu bon à imprimer :
LE DIRECTEUR DE L'ÉCOLE,
PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
G. PLANCHON.

Vu et permis d'imprimer :
LE VICE-RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS,
GRÉARD.